

(4)

(19)



JAPANESE PATENT OFFICE

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11) Publication number: **07075562 A**

(43) Date of publication of application: **20 . 03 . 95**

(51) Int. Cl

**C12N 1/20**  
**A01G 7/00**  
**// A01C 1/06**  
**(C12N 1/20 , C12R 1:64 )**

(21) Application number: **05246082**

(22) Date of filing: **08 . 09 . 93**

(71) Applicant: **NORIN SUISANSYO HOKKAIDO**  
**NOGYO SHIKENJO NIPPON BEET**  
**SUGAR MFG CO LTD**

(72) Inventor: **HONMA YOSHIHISA**  
**UCHINO HIROKATSU**  
**KANZAWA KATSUICHI**  
**SAYAMA MITSURU**

(54) **NOVEL ANTAGONISTIC BACTERIUM SB-K88**  
**BELONGING TO GENUS XANTHOMONAS AND**  
**METHOD FOR GROWING HEALTHY BEET**  
**SEEDLING USING THE BACTERIUM**

(57) Abstract:

PURPOSE: To provide a novel microorganism useful for the growth of healthy seedling of beet and a process for the use of the microorganism.

CONSTITUTION: This novel antagonistic bacterial strain

SB-K88 is useful for the growth of healthy beet seedling, free from pathogenicity to beet and belongs to the genus Xanthomonas. This invention also relates to its cultured product and its treated material. The damping-off of seedling can be controlled and the initial germination is improved to enable the growth of a healthy seedling by treating seed of beet with the novel antagonistic bacterium SB-K88, its cultured product or its treated material.

COPYRIGHT: (C)1995,JPO

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平7-75562

(43) 公開日 平成7年(1995)3月20日

(51) Int.Cl. <sup>6</sup>	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
C 1 2 N 1/20	A	7236-4B		
A 0 1 G 7/00	K	9318-2B		
// A 0 1 C 1/06	Z	8502-2B		
(C 1 2 N 1/20				
C 1 2 R 1:64)				

審査請求 未請求 請求項の数 4 F D (全 8 頁)

(21) 出願番号 特願平5-246082

(22) 出願日 平成5年(1993)9月8日

特許法第30条第 項適用申請有り 平成5年3月10日、  
日本植物病理学会発行の「日本植物病理学会大会講演要  
旨予稿集」に発表

(71) 出願人 592212582

農林水産省北海道農業試験場長  
北海道札幌市豊平区羊ヶ丘1番地

(71) 出願人 000231981

日本甜菜製糖株式会社  
東京都中央区京橋2丁目3番13号

(72) 発明者 本間 善久

北海道札幌市厚別区上野幌3条3丁目20-  
8

(72) 発明者 内野 浩克

北海道帯広市稲田町南8線西16番地

(74) 代理人 弁理士 戸田 親男

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 キサントモナス属に属する新拮抗細菌 S B - K 88 とそれを利用したテンサイ健苗育成方法

(57) 【要約】

【目的】 テンサイの健全な苗の育成に有用な新規微生物とその利用を提供する。

【構成】 テンサイの健全な苗の育成に有用な新規微生物がテンサイに病原性を有さないキサントモナス (Xant  
homonas) 属に属する新拮抗細菌 S B - K 8 8、その培養  
物もしくはその処理物であり、この新拮抗細菌 S B - K  
8 8、その培養物もしくはその処理物をテンサイの種子  
に処理することによりテンサイ苗立枯病の防除と初期発  
芽を改善し、健全な苗を育成することができる。

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 テンサイに対して病原性を示さないキサントモナス (*Xanthomonas*) 属に属する新拮抗細菌 SB-K88、その培養物もしくはその処理物。

【請求項2】 キサントモナス (*Xanthomonas*) 属に属する新拮抗細菌 SB-K88、その培養物もしくはその処理物をテンサイ種子にコート処理することにより苗立枯病を防除することを特徴とするテンサイ健苗育成方法。

【請求項3】 キサントモナス (*Xanthomonas*) 属に属する新拮抗細菌 SB-K88、その培養物もしくはその処理物をテンサイ種子にコート処理することにより発芽を促進することを特徴とするテンサイ健苗育成方法。

【請求項4】 キサントモナス (*Xanthomonas*) 属に属する新拮抗細菌 SB-K88、その培養物もしくはその処理物をテンサイ種子にコート処理したテンサイ種子をベレット加工することにより低温時の初期発芽を促進することを特徴とするテンサイ健苗育成方法。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【産業上の利用分野】 この発明はテンサイの栽培に有効なキサントモナス (*Xanthomonas*) 属に属する新拮抗細菌 SB-K88 と当該新拮抗細菌を利用するテンサイ健苗育成方法に係り、特にテンサイの苗立枯病の防除と発芽促進への利用に関する。

## 【0002】

【従来の技術】 テンサイの重要病害の一つに苗立枯病があり、土壤中に生息する土壤菌であるリゾクトニア ソラニ (*Rhizoctonia solani*)、ピシウム ウルチマム (*Pythium ultimum*)、アフアノマイセス コクリオイデス (*Aphanomyces cochlioides*) が主たる病原菌であることが知られている。

【0003】 上記テンサイの苗立枯病の発生は、バーバポット (登録商標、以下同じ) による育苗にあっては、タチガレン、リゾレックス、バリダジン (何れも登録商標、以下同じ) 等の薬剤を培土に混合するか、あるいは培土に灌注することにより、またテンサイ種子を直接畑に播種する場合にあっては、種子に前記薬剤を粉衣することにより防除されている。一方、薬剤に代わる生物的な防除方法も種々提案されていて例えば、生越等

(1988)、遺伝、第42巻、第6号、第25頁～第29頁にはテンサイ種子の拮抗細菌によるバクテライゼーション (種子あるいは苗に拮抗性の微生物をまぶす方法) についての研究結果で、苗立枯病の病原菌に対して有効な拮抗細菌としてシウドモナス フルオレッセンス (*Pseudomonas fluorescens*)、シウドモナス プチダ (*Pseudomonas putida*)、シウドモナス セバシア (*Pseudomonas cepacia*)、バチルス エスピー (*Bacillus sp.*) を挙げ、またこれら拮抗細菌のなかには発芽促進効果のあるものがあることが記載され、築尾 (1993)、植物防疫、第47巻、第3号、第30頁～第33頁にはテンサ

イのベレット種子 (不規則な形状をしたテンサイ種子を粘土鉱物などで球形に被覆したもの) へのテンサイ苗立枯病の拮抗細菌の添加について、供試したシウドモナス セバシア (*Pseudomonas cepacia*) およびシウドモナス フルオレッセンス (*Pseudomonas fluorescens*) にテンサイ苗立枯病の抑制効果のあることが記載され、MONIKA RATH 等 (1992)、Bulletin OILB/SROP、第15巻、第1号、第113頁～第114頁にはテンサイの拮抗微生物による種子腐敗と苗立枯病の生物的防除について、有効な拮抗微生物としてシウドモナス フルオレッセンス (*Pseudomonas fluorescens*) 等が記載され、特開平5-51305 公報明細書にはバチルス スブチリス (*Bacillus subtilis*) SC-3 およびその変異菌を植物の種子にコート処理することにより植物病害を防除する方法が記載されている。

## 【0004】

【発明が解決しようとする課題】 上記で挙げた、テンサイ苗立枯病の防除手段において薬剤による方法は、適用処方等が確立して実用化されており、効果的な防除方法を与えるが、化学物質であることから薬剤耐性や人畜に対する安全性あるいは残留性の点において万全とさええず、またテンサイ苗立枯病が恒常的に発生する傾向にあることから営農コスト的にも大きなウエイトを占めるため低廉な手段が望まれている。

【0005】 一方、拮抗微生物による防除手段として上記の様に種々生物的手段が提案されているが、何れも研究段階に留り、実用化に向けてなお解決されなければならない課題を残している。例えば、上記各種の研究でテンサイ苗立枯病の拮抗細菌として挙げられているシウドモナス フルオレッセンス (*Pseudomonas fluorescens*)、シウドモナス プチダ (*Pseudomonas putida*)、シウドモナス セバシア (*Pseudomonas cepacia*)、バチルス スブチリス (*Bacillus subtilis*) SC-3 を、テンサイ苗立枯病の防除に利用しようとする場合には、これら菌の活性が安定していることが重要な要件となるが、上記シウドモナス (*Pseudomonas*) 属の細菌が生産する物質の1つであるピロールニトリンをメルクマールとして活性の持続性についてみてはなお活性の安定性に問題があり、またテンサイ栽培は、営農人口の老齢化に伴う省力化、並びにコストの低減のために、将来的には直播、無間引き栽培の割合が益々高くなることが予測され、これがため、発芽性を向上させ得苗率を増加させるより有効な拮抗微生物による生物的防除手段の提供が望まれている。

## 【0006】

【課題を解決するための手段】 この発明者等は、上記事情に鑑み、テンサイ苗立枯病の防除により有効な拮抗微生物について鋭意研究した結果、テンサイの細根から分離した微生物の中に前記要件を満足し、特に低温時における発芽促進作用をも抱き合わせて有する拮抗微生物を

見出し、同定により従来知られていない新拮抗細菌と断定し、この知見に基づきこの発明に想到したものであり、第1の発明は、テンサイに対して病原性を示さないキサントモナス (*Xanthomonas*) 属に属する新拮抗細菌 SB-K88 自体であり、第2の発明は、第1の発明の新拮抗細菌 SB-K88 の利用に係り、テンサイに対して病原性を示さないキサントモナス (*Xanthomonas*) 属に属する新拮抗細菌 SB-K88 をテンサイ種子にコート処理することにより苗立枯病を防除することを特徴とするものであり、第3発明は、同様にテンサイに対して病原性を示さないキサントモナス (*Xanthomonas*) 属に属する新拮抗細菌 SB-K88 をテンサイ種子にコート処理することにより低温時の発芽を促進することを特徴とするものであり、第4の発明は、第3発明のテンサイに対して病原性を示さないキサントモナス (*Xanthomonas*) 属に属する新拮抗細菌 SB-K88 をテンサイ種子にコート処理しさらにベレット加工することにより低温時の発芽を促進することを特徴とするものであり、これにより、拮抗微生物によるテンサイ苗立枯病の防除を安定的に実施可能とし、合せて低温時における発芽を改善して生育の揃った苗の確保を可能とできたものである。以下作用を含めてこの発明を詳細に説明する。

【0007】この発明のテンサイ苗立枯病の病原菌に有効な新拮抗細菌は、北海道帯広市上清川町のテンサイ連作圃場に栽培したテンサイ細根より分離された微生物で、以下の手順により分離されたものである。採取した細根を蒸留水で洗浄後摩砕し、摩砕液は滅菌水で  $10^6$  程度に希釈し、希釈液 1ml を、培地組成がシュクロース 10g/l、カゼイン加水分解物 8g/l、イーストエキス 4g/l、寒天 15g/l および蒸留水 1000ml の寒天培地 (培地1という) で固化寸前の培地に懸濁し、固化後 25℃ に7日間培養して生じたコロニーから、培地組成がばれいしよ煎汁 200g/l、ペプトン 5g/l、グルコース 3g/l、シュクロース 2g/l、寒天 15g/l、蒸留水 1000ml の試験管斜面培地 (培地2という) に分離した。

【0008】分離株の保存はグルタミン酸ナトリウム 1g/l、スキムミルク 10g/l、蒸留水 1000ml の分散媒にけん濁後 -8.0℃ に凍結保存し、使用に当たっては前記保存菌株を前記培地1および培地2に植え、25℃ で静置培養する。

【0009】菌学的性質は以下の如くである。なお、菌学的性質の検討はバージェーズ・マニュアル・オブ・システムチック・バクテリオロジー (Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (1984), Vol. 1、および長谷川武治著、微生物の分類と同定 (1985)、学会出版センターによる。

(a) 形態

(1) 細胞の形および大きさ：単独もしくは2~3連の直桿菌で  $0.5 \times 2.0 \mu m$

(2) べん毛：極べん毛なし

(3) 孢子形成：なし

(4) グラム染色：陰性

(b) 生育状態

前記培地1の組成の1.5%寒天培地で25℃、7日間培養したときの生育状態は以下のとおり。

(1) 形状：円形

(2) 周縁：円滑

(3) 隆起：盛り上がる。ただし乳頭様 (umbonate) ではない。

(4) 表面：円滑

(5) 色調：黄色

(c) 生理学的性質

(1) O-Fテスト (Hugh Leifson法による)：陰性

(2) 生育の範囲：最適 pH：6.5 生育 pH：4.0~7.0

最適温度：28℃ 生育温度：25~40℃

(3) 塩化ナトリウム5%：陰性

(4) トリフェニールテトラゾリウムクロライド0.1%：陰性

(5) メチルグリーン0.02%：d

(6) ユビキノロン：Q8

(7) シュクロースからのレバノン産生性：陰性

(8) アルギニン加水分解性：陰性

(9) オキシダーゼ反応：陰性

(10) 脱窒反応：陰性

(11) 主要な菌体脂肪酸：13-メチル テトラデカン酸 (i-c15:0)

(12) GC (グアニン、シトシン) 含量：66.8%

(d) 炭素源の資化性

培地組成が硫酸アンモニウム 8g/l、リン酸一水素カリウム 0.3g/l、リン酸二水素カリウム 0.2g/l、硫酸マグネシウム・7水塩 0.5g/l、塩化カリウム 10.2g/l、メチオニン 50mg/l、寒天 15g/l、コハク酸塩 1g/l、D-ガラクトース 2g/l、グルコース 2g/l、プロピオン酸塩 1g/l の培地 (培地3という) に接種し、30℃ で培養後生育を示したものを陽性とした。

(1) 資化されたもの：グルコース、トレハロース、コハク酸塩

(2) 資化されないもの：D-ガラクトース、プロピオン酸塩、2-ケトグルコン酸塩、メソイノシトール、L-バリン、β-アラニン、DL-アルギニン、馬尿酸塩

【0010】(e) 在来の類似種との比較

上記菌学的性質および下記の植物に対する病原性からこの発明のテンサイ苗立枯病の病原菌に効果的に拮抗作用を有する微生物は、好気性のグラム陰性桿菌であり、ユビキノロン Q8 を持ち、主要な菌体脂肪酸は分岐酸である13-メチル テトラデカン酸を持つこと、GC (グアニン、シトシン) 含量が66.8%であることから判断してキサントモナス (*Xanthomonas*) 属に属する細菌であることが明らかであり、植物に対する病原性およびD-ガ

ラクトース、プロピオン酸塩の資化性が何れも陰性であることから、キサントモナス キャンペストリス (*Xanthomonas campestris*) とは異なり、また、コロニーの形状が乳頭様 (umbonate) でないこと、塩化ナトリウム4%およびトリフェニールテトラゾリウムクロライド0.1%で生育できないことの点からキサントモナス マルトフィリア (*Xanthomonas maltophilia*) ではないことから、キサントモナス (*Xanthomonas*) 属に属する新菌種であると判断し、キサントモナス エスピー (*Xanthomonas* sp.) SB-K88と命名した。この新拮抗細菌は工業技術院生命工学工業技術研究所に平成5年8月23日付でFERM P-13821として寄託されている。

#### 【0011】(f) 培養方法

上記で命名したキサントモナス エスピー (*Xanthomonas* sp.) SB-K88の培養は原則的には一般的な細菌の場合と同様であるが、上記培地1、培地2および培地3の何れにおいても良く生育する。

#### 【0012】(g) 植物に対する病原性

プロテオース ペプトン#3 (Difco) 20.0g/l、リン酸一水素カリウム1.5g/l、硫酸マグネシウム・7水塩1.5g/l、グリセロール15ml、寒天15.0g/l、蒸留水1000ml組成の培地に25°C、3日間培養したコロニーに爪楊枝先端を刺し入れて菌を付着させ、その先端をダイコンおよびテンサイの幼苗と、ダイコン、ハクサイ、キャベツ、シロナ、タイナ、タアサイ、チンゲンサイおよびテンサイの切葉のそれぞれの葉部の表裏の葉脈部に突き刺して接種し、温室に入れ23°Cの陽光定温器内に静置し、発病の有無を病原性既知のキサントモナス キャンペストリス パソパー キャンペストリス (*Xanthomonas campestris* pv. *campestris*) との対比により確認した結果、上記で命名したキサントモナス エスピー (*Xanthomonas* sp.) SB-K88には病原性は認めなかった。

#### 【0013】次に上記で説明した新拮抗細菌キサントモ

ナス エスピー (*Xanthomonas* sp.) SB-K88 (以下単に「SB-K88」という) のスクリーニングとテンサイ苗立枯病の抑制および発芽促進の状況について試験例をもって説明する。

#### 【0014】

##### 試験例-1 (SB-K88のスクリーニング)

北海道帯広市上清川町のテンサイ連作圃場に栽培したテンサイ細根から分離した374の菌株を前記培地3で3日間培養した菌体のそれぞれを同一条件下でコーティングしたテンサイ単胚種子モノエース・S (品種、以下同じ) を、自然汚染土壌を充填した素焼鉢 (径12cm、高さ12cm) 1鉢当たり13粒宛播種し温室内で2週間育苗する育苗試験を行なった結果、苗立枯病の抑制を示した41株が選別された。これら41株について、更に上記同様の育苗テストを反復して苗立枯病の発病抑制に高い再現性を示した11株が選別された。

【0015】上記で選別できた11株のそれぞれを、上記と同様にコーティングしたテンサイ単胚種子を、自然汚染土壌単独、およびテンサイ苗立枯病の主要な病原菌であるリゾクトニア ソラニ (*Rhizoctonia solani*) AG-4、ピシウム ウルチマム (*Pythium ultimum*)、アフアノマイセス コクリオイデス (*Aphanomyces cochlioides*) をそれぞれ接種した砂壤土 (淡色黒ボク土壌) を充填したペーパーポット (対角径0.9cm、高さ13cmの六角柱状) に1粒/ポット宛で播種しビニールハウス内で35日間育苗テストを行なった。テストの結果を菌体のコート処理なしの上記種子を上記各土壌に播種した場合 (無処理)、および同種子を上記各土壌にタチガレン (粉剤) とPCNB (粉剤) をそれぞれ有効成分が50ppm となるように混合した土壌に播種した場合 (薬剤処理) を対照として表1に示す。

#### 【0016】

##### 【表1】

菌株番号	自然汚染 土 壤	病原菌接種土壌		
		R. solani	P. ultimum	A. cochlidioides
SB-K88	25.0 a	26.7 a	15.0 a	21.1 a
SB-K90a	77.9 c	49.2 bcd	61.2 cd	65.6 cde
SB-K174a	73.7 bc	68.4 e	55.8 c	70.0 cde
SB-K272a	65.8 bc	54.2 bcde	58.8 cd	70.6 de
SB-K323a	63.3 b	70.0 e	55.4 c	43.1 b
SB-K323b	64.3 b	57.1 bcde	47.5 b	54.4 c
SB-K331a	77.5 bc	64.2 de	72.5 d	78.9 e
SB-K331b	60.4 b	56.7 bcde	50.4 bc	60.0 d
SB-K331c	75.4 bc	66.7 de	59.6 cd	67.9 cde
SB-K384a	60.8 b	42.1 ab	50.4 bc	75.4 de
SB-K384b	70.5 bc	57.5 bcde	55.0 c	67.8 cde
無処理	63.4 b	61.3 cde	56.7 c	75.8 e
薬剤処理	26.7 a	34.3 ab	26.3 ab	17.9 a

・ a, b, c, d, e は Duncan の多重検定 ( $p = 5\%$ ) による。同一文字は有意差がないことを示す。

【0017】表1において、各数値は苗立枯病の罹病度を示し、発病の程度を各個体ごとに0～2の4段階の発病指数で調査し、下記の式により罹病度を求めた。結果

の判定はDuncanの多重検定により行なった。

【0018】

発病指数

判定基準

2

出芽前立枯を起こしているもの

1

出芽後立枯を起こしているもの

0.5

軽症（立枯は起こしていないが罹病しているもの）

0

健全のもの

罹病度 = { [(個々体×指数)の合計] / (発病指数2 × 全個体数) } × 100

【0019】その結果によると、SB-K88に自然汚染土壌、および病原菌接種土壌の全てにおいて薬剤施用の抑制に同程度の良好な抑制を認めた。残りの菌株についても、生息あるいは接種した病原菌別に一部の菌株にある程度の抑制を認めたが、SB-K88のそれには到底及ばず、テンサイ苗立枯病の防除に有効な菌株として

SB-K88、即ちこの発明の新拮抗細菌SB-K88が最も有効な菌株として選別された。

【0020】

試験例-2 (SB-K88の濃度と抑制)

上記試験例-1で選別されたSB-K88の有効濃度について上記ペーパーポットによる育苗試験の要領で自然汚染土を用いて行なった。種子にコーティングする菌体濃度を $10^4$ 、 $10^3$ 、 $10^2$ cfu/1粒種子(cfuはcolony for

ming unit の略)と設定し、1試験区30個体(1粒/ポット)の4反復とした。その結果を上記試験例-1と同様に無処理、薬剤処理を対照として表2に示す。

【0021】  
【表2】

処理区	出芽苗数	立枯苗数	生残苗数	乾物葉重量			
濃度	(本)	(本)	(本)	苗立枯病	罹病度	区(g)	個体(mg)
(cfu/1粒)	出芽前	出芽後					
10 <sup>8</sup>	28.8	1.2	2.3	26.5	8.8 a	0.748 a	26.9 a
10 <sup>7</sup>	21.5	8.5	3.3	18.3	33.8 b	0.533 b	29.9 b
10 <sup>6</sup>	18.3	11.7	4.5	13.8	46.7 c	0.455 b	33.0 b
無処理	22.0	8.0	5.3	16.8	35.4 bc	0.385 b	23.6 a
薬剤処理	28.3	1.7	2.3	26.0	7.8 a	0.568 b	23.7 a

・各数値は、30個体に対する平均値。

・a, b, c はDuncanの多重検定 ( $p < 0.05$ ) による。同一文字は有意差がないことを示す。

【0022】表2から菌体濃度を高くするにつれて抑制が強化する傾向が認められ、濃度が10<sup>6</sup>cfu/1粒種子では殆ど抑制は期待できず、薬剤処理に同等の抑制を期待するには10<sup>7</sup>cfu/1粒種子以上、好ましくは10<sup>8</sup>cfu/1粒種子以上が実用濃度であることが知れた。

【0023】上記で、この発明の新拮抗細菌SB-K88がテンサイ苗立枯病の防除に有効な微生物であることを明らかにしたが、このような抑制作用はテンサイの種子にSB-K88をコーティング処理することによって達せられ、その処理は上記試験例のように単に種子に付着させるだけでもよく、また付着させた後に更に適当な被覆剤により被覆したペレット状に加工してもよく、処理の態様によって抑制が影響されるものではなく、栽培条件に対応して適宜選択すればよい。

【0024】この発明の新拮抗細菌SB-K88による

苗立枯病発病の良好な抑制が如何なる作用機序によるのかは定かではないが、種子にコーティングした菌体がテンサイ苗の根圏で十分に増殖して病原菌に量的に勝り病原菌の感染、活動を防御するのか、あるいは何か強烈な抗菌物質を産生して、これによって病原菌そのものを死滅あるいは不活化せしめるのかは今後の研究に待たれるところであるが、この発明の新拮抗細菌SB-K88の提供がテンサイの栽培を大きく改善することは意義が深い。なお、この発明の新拮抗細菌SB-K88には、上記テンサイの苗立枯病防除に有効なばかりではなく、特に低温時(15℃前後)における発芽を促進する作用も持ち合わせていることが知れた。そして、この場合には種子にコーティング処理し、更に被覆剤によりペレット状に加工したときにより良好となる傾向が認められた。これにつき試験例3で説明する。

## 【0025】

## 試験例-3 (テンサイ種子の処理別発芽)

テンサイの育苗において、育苗開始後3～5日目の初期発芽が其の後の苗完成強いてはテンサイの収穫に重要な要件となるため、可能な限り初期発芽が高い条件を設定する。そこで、SB-K88が初期発芽にどのように関与するかについて試験した。

【0026】凍結保存菌株から分取したSB-K88を前記培地3で3日間培養後、遠心法により洗浄した菌体に菌体濃度が $10^7$  cfu/1粒種子となるように蒸留水を加えて菌体けん濁液を調製し、これにテンサイ単胚種子モノエース・S (元種子) 40g (約4000粒) を加えてSB-K88を付着させた後取り出し風乾してSB-K88コート処理種子を調製した。このSB-K88コート処理種子を2分し、その一方をSB-K88コート処理種子として供試し、他方を釜型造粒機 (仕様: 径

44cm、深さ14cm、平底、上部に14cmの開口がある球形回転釜、30rpm、回転角度30～40度) の中に20g量で供給し、回転させながら、水と、珪酸塩類を主剤とする被覆剤とPVA (水溶性糊) を主とする結合剤の混合粉剤を散布し、粒径がおおよそ4.5mmとなるまで造粒し、これを取り出し、風乾してSB-K88コート+ベレット処理種子を調製した。

【0027】別に、上記元種子を上記手法でベレット加工したベレット処理種子を調製し、ここで調製した3形態の種子と元種子について、濾紙法 (公定法) により、設定温度15℃、25℃、1区100粒、4反復の条件設定により発芽試験開始後3日目発芽率を測定した。この結果を表3に示す。

## 【0028】

## 【表3】

温度 (℃)	処理別	3日目の平均発芽率 (%)
15	無処理	20.5
	無処理+ベレット	44.8
	無処理+SB-K88コート	28.5
	無処理+SB-K88コート+ベレット	66.8
25	無処理	88.3
	無処理+ベレット	88.0
	無処理+SB-K88コート	79.3
	無処理+SB-K88コート+ベレット	88.5

各数値は4反復の平均値を示す。

【0029】表3から、処理別の発芽率を考察すると、発芽設定温度が15℃においては、元種子の発芽率を基準にして、ベレット処理種子では発芽率実数で24.3%の発芽性上昇の改善が、同様にSB-K88コート処理種子では8.0%の発芽性上昇の改善が、また、SB-K88コート+ベレット処理種子では46.3%の発芽性上昇の改善が認められた。SB-K88コート+ベレット処理種子がもたらす46.3%の発芽性上昇の改善には前二者の発芽性上昇の改善を含むが、前二者の発芽性上昇の改善を相加した値は32.3%でありこれを大きく越えるものである。このことから、SB-K88コート+ベレット処理種子がもたらす発芽性上昇の改善

はSB-K88コートとベレット化の二つの処理が相乗的に効果した結果と認めることができる。

【0030】一方、発芽設定温度が25℃の場合には、温度の要因が大きく作用し、処理別には殆ど無関係に80%台の発芽率を示し、SB-K88コート処理、ベレット化による発芽性改善は殆ど認められない。このことから、テンサイ種子のSB-K88コート、ベレット化の処理は、15℃のような低温の環境、例えば冬期乃至は春先に育苗を行なう場合に有効な手段を提供する。

【0031】以上詳細に説明したように、この発明のキサントモナス (Xanthomonas) 属に属する新拮抗細菌SB-K88はテンサイの栽培に利用して、重要病害である



苗立枯病を防除し、また低温環境にある育苗において初期の発芽勢を促進して発芽揃いをもたらすので、従来知られていない産業上極めて有用な微生物である。

【0032】

【実施例】

実施例1

上記試験例3の要領で、濃度 $10^7$ cfu/l粒種子のSB-K88をテンサイ単胚種子モノエース・Sにコート処理し、風乾後ペレット加工して、粒径4.3~4.6mm範囲のSB-K88コート+ペレット種子20g(約2000粒)を調製し、対照として、テンサイ単胚種子モノエース・Sを単にペレット加工した粒径4.3~4.6mm範囲のペレット種子約2000粒を調製した。

【0033】対角径が19mm、高さ130mmの六角柱状のペーパーポット50本を1区として、これをA、B、Cの3区の3反復を用意し、これら3区のペーパーポットのそれぞれに、テンサイ苗立枯病の病原菌の生息が認められたテンサイ栽培圃場の土壌を常法により詰め、填

圧により上部におよそ15mmの覆土空間部を形成し、A区には上記で調製したSB-K88コート+ペレット種子を、B、C区には単にペレット加工したペレット種子をそれぞれ、1粒/ポットで填圧土壌上部に播種し、A区、C区の覆土空間部には上記テンサイ栽培圃場の土壌を、B区の覆土空間部には上記テンサイ栽培圃場の土壌1kgに薬剤リゾレックスH(粉剤)を18g混合した薬剤処理土壌をそれぞれ覆土して播種を完了し、ビニールハウス内の同一条件において常法による灌水管理下で育苗した。

【0034】発芽は育苗開始後5日目から認められ、8日目に至って略々出揃った。その後40日目まで育苗を継続して成苗を計った。8日目~育苗完了の間において苗立枯病の発生が認められた。8日目の初期出芽率、14日目の総出芽率および40日目の得苗率(播種数に対する健全苗の%)の調査結果を表4に示す。

【0035】

【表4】

区 別	初期出芽率 (%)	総出芽率 (%)	得苗率 (%)
A	86	92	89.8
B	62	74	71.2
C	58	74	70.2

各数値は3反復の平均値を示す。

【0036】SB-K88コート+ペレット種子を播種したA区は、他の2区に比して初期出芽が良好で総出芽も良好に推移し、得苗率も90%に及ぶ成績を認めた。覆土を薬剤処理したB区は、覆土を何も処理しないC区に僅少勝るが、得苗率でA区をおよそ実数で30%下回る成績であった。

【0037】

【発明の効果】この発明によるときは、キサントモナス(Xanthomonas)属に属する新拮抗細菌SB-K88は凍

結保存でき、使用に当たりその一部を取り出して容易に増殖できるので、取り扱いが簡単であり、また使用は増殖した上記新拮抗細菌SB-K88をテンサイの種子にコート処理するだけ、あるいはコート処理後ペレット加工する簡単な処理でよく、取り扱いが容易であり、この様に新拮抗細菌SB-K88をコートした種子を播種することにより、常時発芽の揃った健苗をもたらす、これにより品質の良好なテンサイの収穫を結果するので、テンサイの健苗育成および栽培に極めて有益である。

フロントページの続き

(72)発明者 神沢 克一

北海道帯広市稲田町南9線西19番地

(72)発明者 佐山 充

北海道札幌市豊平区羊ヶ丘1番地 農試寮